

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND
Keemia Instituut

Maikal Pikalev

**ESTRI HÜDROLÜÜSI KINEETIKA UURIMINE VESI-METANOOL
SOLVENTSEGUDES**

Bakalaureusetöö (6 EAP)

Juhendajad: Siim Salmar, PhD

Sander Piiskop, MSc

Kaitsmisele lubatud

Juhendaja

allkiri, kuupäev

SISUKORD

1. KASUTATUD LÜHENDID	3
2. SISSEJUHATUS	4
3. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	5
3.1 Estrite pH-st sõltumatu hüdroolüüsi kineetika mõõtmise vesi-orgaanilistes segasolventides	7
4. EKSPERIMENTAALNE OSA	8
4.1 Reaktiivid ja lahendid.....	8
4.1.1 Kasutatud ühendite puhastamine	8
4.2 Aparatuur ja töövahendid.....	8
4.3 4-metoksüfenüül-2,2-dikloroatsetaadi süntees [28]	9
4.4 Eelkatsed mudelreaktsioonile.....	10
4.4.1 Fotomeetrilised testimised.....	10
4.4.2 Mudelreaktsiooni pH-st sõltuvuse kontroll	10
4.5 Kineetilised mõõtmised mudelreaktsiooniga	10
5. TULEMUSED JA ARUTELU	12
5.2 Mudelreaktsiooni kineetika eeluuringud	12
5.2.1 Fotomeetrilised testimised.....	12
5.2.2. pH-st sõltumatu 4-MPDCA hüdroolüüsi pH piirkonna määramine.....	14
5.3 Mudelreaktsiooni kineetika mõõtmised vesi-metanool segus.....	14
6. KOKKUVÕTE	18
7. SUMMARY	19
8. KASUTATUD KIRJANDUSE LOETELU	20

1. KASUTATUD LÜHENDID

- 4-MP – *4-methoxyphenol* – 4-metoksüfenool
- 4-MPDCA – *4-methoxyphenyl dichloroacetate* – 4-metoksüfenüüldikloroatsetaat
- ATR – *attenuated total reflectance* – nõrgendatud täielik sisepeegeldus
- HCl – *hydrochloric acid* – soolhape
- IP – *infrared spectroscopy* – infrapunane spektroskoopia
- MeCN – *acetonitrile* – atsetonitriil
- MeOH – *methanol* – metanool
- TMR – *nuclear magnetic resonance* – tuumamagnetresonants
- UV-Vis – *ultraviolet-visible spectroscopy* – ultravioletnähtava ala spektroskoopia

2. SISSEJUHATUS

Mittepolaarsed ühendid lahustuvad vees suhteliselt halvasti ja lahustuvuse soodustamiseks, nt. reaktsioonide läbiviimiseks vees lisatakse enamasti orgaanilisi kaassolvente. Erinevalt puhaste orgaaniliste lahustite mõjust keemilisele reaktsioonivõimele, mida on nüüdseks üsnagi palju uuritud, ei ole solvendiefektidest vesi-orgaaniliste lahustite segudes ikka veel üldist ja piisavat arusaamist, kuigi see teadmine on üks eeldus arendamaks vee kui roheliseima ja odavaima lahusti rakendusi erinevates tööstuslikes protsessides.

Solventsegudes, mis on suutelised moodustama vesiniksidemeid, sõltuvad solvendiefektid reaktsioonikeskkonna mikrostruktuurist. Lisaks sellele esinevad vesi-orgaanilistes segudes iseloomulikud hüdrofoobsed vastasmõjud, mis samuti mõjutavad reaktsioonivõimet. Substraadi lisamisel vesi-kaassolventsegule esineb soluudi eelissolvatatsioon lahusti erinevate komponentide poolt.

Meie töögrupp teostab uurimust leidmaks kvantitatiivseid seoseid substraadi omaduste ja solvatatsiooni ning reaktsioonivõime vahel. Oleme kogunud kirjandusest suurel hulgal olemasolevaid kineetika andmeid erinevatele reaktsioonidele, mis on määratud erinevates vesi-orgaanilistes solventsegudes võimalikult laias kaassolvendi sisalduse alas. Analüüs näitas, et estrite hüdroolüüside kineetikat on uuritud väga pisteliselt, kusjuures pH-st sõltumatut hüdroolüüsi ainult mõne estriga kahes erinevas vesi-kaassolvent segus. Saamaks paremat arusaama solvendi mõjust vesi-orgaanilistes segudes, on osutunud vajalikuks täita see lünk ja teostada andmebaasi süsteemne täiendamine edasiseks teoreetiliseks analüüsiks.

Antud projekti raames on juba mõõdetud mudel estri (4-metoksüfenüüldikloroatsetaat) pH-st sõltumatu hüdroolüüsi kineetikat vesi-atsetonitriil solventsegudes (0-60 massi%, 15°C, 25°C, 35°C, 45°C). Teostamisel on mõõtmised vesi-etanool, -dioksaan, -dimetüülsulfoksiid, -2,2,2-trifluoroethanol ja 2-propanool segudes.

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on täiendada kaassolventide loetelu ja läbi viia analoogsed 4-metoksüfenüüldikloroatsetaadi hüdroolüüsi kineetika mõõtmised vesi-metanool segudes laias kaassolvendi koostise vahemikus ning teha seda erinevatel temperatuuridel.

3. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

Veel hiljuti oli vee kasutamine orgaanilises sünteesis keskkonnana erandlik, mis tulenes paljuski vee suhteliselt suurest reaktiivsusest ja mittepolaarsete ainete väga halvast lahustuvusest. Viimastel kümnenditel on leitud, et paljud reaktsioonid on mitmeti soodustatud nii vees, vee juuresolekul kui ka nn vee peal („on water“) ja kujutavad endast juba iseseisvaid distsipliine orgaanilises sünteesis [1,2]. Valdav enamik biokatalüütilisi reaktsioone teostatakse vees [3].

Vesi pole küll kõige parem lahusti mittepolaarsetele ühenditele, kuid vette lisatavad orgaanilised kaassolvendid võivad nende ühendite lahustuvust parandada. See omadus võimaldab teostatavate rakenduste valikut oluliselt suurendada [1,2]. Vesi-orgaanilised binaarsed segud on hinnatud lahused tööstuslikes keemilistes reaktsioonides, nagu näiteks solventekstraktsioonis ja teistes samaväärsetes protsessides [4] ning alkohol-vesi solventsegud on hinnatud kui kõige ohutumad, odavamad ja keskkonnasõbralikumad [1,2]. Alkohol-vesi ja atsetonitriil-vesi lahused leiavad tihti kasutust eluentidena kõrgefektiivses vedelikkromatograafias [2].

Solvendi toimet reaktsioonivõimele puhtas vees ja puhastes solventides nende omadustest lähtudes on uuritud väga palju ja selles valdkonnas on olemas piisavalt laialdane arusaam [2]. Samas vesi-orgaaniliste segude puhul, mille käitumine erineb suuresti puhaste solventide omast, on palju veel lahtimõtestamata.

Kuna antud bakalaureusetöös uuritakse vesi-metanool segusid, siis teoreetilise probleemistiku lahtimõtestamisel proovitakse keskenduda just sellele segusüsteemile. Vesi on tänu kolmemõõtmelisele vesiniksidemete võrgustikule molekulaartasandil väga struktureeritud [1,2]. Koordineeritud veevõrgu vesiniksidemete ulatusel on aga märgatav mõju keemilise reaktsiooni kiirusele lahustites. Kui veele lisada orgaanilisi kaassolvente, mis on võimalised samuti vesiniksidemeid andma, nagu näiteks alkoholid, siis moodustub kõrgstruktuurne süsteem, mis erinevate segukomponentide koostise korral võib suuresti erineda [1,2,5-8].

On teada, et metanool seguneb veega suvalises vahekorras. Samas hiljutised binaarsete vesi-metanool segude uuringud erinevate füüsikaliste meetoditega nagu mass-spektromeetria, neutrontifraktsiooni, röntgenkiirguse emissioonspektroskoopia ning ka molekulaardünaamiline simulatsioon on näidanud, et molekulaarsel tasandil pole segunemine täielik [5-8]. Keemilise füüsika vaatenurgast on metanooli puhul tegemist vee analoogiga, milles vesiniku aatom on

asendatud metüülrühmaga. Nimetatud asendus muudab need kaks ainet väga erinevateks [7]. Hüdroksüülrühm võimaldab alkoholidel vesiniksidemeid moodustada ja vastutab nende hea lahustuvuse eest vees. Seevastu hüdrofoobne alküülrühm ei osale vesiniksidemete võrgus veega. On leitud, et tänu hüdrofoobsetele interaktsioonidele eelistavad metanooli metüülrühmad eelistavad omavahel ühineda, moodustades ahela või ringikujulisi klastreid. Röntgen- ja neutroondifraktsiooni uuringud on näidanud, et suuremate alkoholi kontsentratsioonide korral toimub segus faasialdus molekulaarsel skaalal ja tekib mikroemulsioon [5-8]. Sellised hüdrofoobsed interaktsioonid on määravaks jõuks agregeerumise ning inter- ja intramolekulaarse sidumise protsessides vees ja mängivad tähtsat osa elusrakkude toimimisel [9,10]. Praeguseks on mõistetud, et vesikeskkonnas on hüdrofoobsetel vastastoimetel samuti suur mõju keemilisele tasakaalule ja reaktsiooni kiirusele [9-11].

Viimased arengud vesi-alkohol segude uurimisel on toonud välja, et hüdrofoobse lisandi (soluudi) lisamisel binaarsele segule võib ka lahusti mikrostruktuur muutuda [12-14] ja substraat eelissolvateerub, mis tähendab, et selle solvaatkatte koostis erineb kogu lahuse koostisest [15,16]. Pole veel ühist arvamust selle kohta, kas lahustunud aine lihtsalt liitub lahuses olevate klastritega või moodustuvad täiesti uued kompleksid. Meie töögrupis hiljuti läbiviidud MD simulatsioonid estrile vesi-orgaanilistes lahustes vihjasid, et lahustunud aine moodustab solvaatkatte, mis erineb põhilahuse klastritest [17,18].

Nendes ülimalt komplitseeritud binaarsete solventsüsteemide lahustiefekte on proovitud kirjeldada rakendades lihtsustatud solvendivahetuse mudeleid [5,19] või tuginetud empiirilistele multiparameetrilistele korrelatsioonidele [2].

Meie töögrupp on läbi viinud uurimuse leidmaks kvantitatiivseid seoseid substraadi omaduste ja solvatatsiooni ning reaktsioonivõime vahel [20,21]. Oleme kogunud kirjandusest suurel hulgal olemasolevaid kineetika andmeid erinevatele reaktsioonidele, mis on määratud mitmesugustes vesi-orgaanilistes solventsegudes võimalikult laias kaassolvendi sisalduse alas. Analüüs näitas, et estrite hüdrolüüside kineetikat on uuritud väga pisteliselt, kusjuures pH-st sõltumatut hüdrolüüsi ainult mõne estriga kahes erinevas vesi-kaassolvent segus [21]. Saamaks paremat arusaama solvendi mõjust vesi-orgaanilistes segudes, on osutunud vajalikuks täita see lünk ja teostada andmebaasi süsteemne täiendamine edasiseks teoreetiliseks analüüsiks.

3.1 Estrite pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kineetika mõõtmine vesi-orgaanilistes segasolventides

Vesi-orgaanilistes segasolventides laias kaassolvendi sisalduse vahemikus on valdavalt mõõdetud 2-metüül-2-kloropropaanile sarnaste substraatide solvolüüsi reaktsioonide kineetikat [21]. Vähesel määral on mõõdetud sellest erinevat tüüpi reaktsioonide kineetikat, sealhulgas ka estrite hüdrolüüsidele, mis on valdavalt alus- ja happekatalüütilised [21].

Vesi-orgaanilistes solventsegudes kineetika mõõtmise seisukohalt ja nende andmete edasisel kasutamisel solvendiefektide uurimiseks on pH-st sõltumatu (vee poolt katalüüsitud) hüdrolüüs kindlasti parim valik, kuna teatavasti muudavad orgaanilised solvendid veesegude happe-aluse omadusi ning pH määramine on väga komplitseeritud [22-25].

Kirjandusest saadud andmete põhjal on ulatuslikumalt mõõdetud pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kineetikat 4-nitrofenüül-2,2-dikloroatsetaadi (4-NPDCA) puhul vesi-2-metüül-2-propanooli segudes [22] ja 4-metoksüfenüül-2,2-dikloroatsetaadi puhul vesi-2-metüül-2-propanooli [22] ning vesi-atsetonitriil [23] segudes mõnekümne massiprotsendi kaassolvendi sisalduse ja 25 °C juures.

4-nitrofenüülheptafluorobutüraadi [24], 4-nitrofenüülkloroformiaadi [24] ja bis (2,4-dinitrofenüül) karbonaadi [25] hüdrolüüsi kineetikat ainult vesi – atsetonitriil segudes, kuid 0-100-massiprotsendi ulatuses.

Meie töögrupis on mõõdetud 4-nitrofenüülkloroatsetaadi (4-NPCA) vee poolt katalüüsitud hüdrolüüsi kineetikat vesi-etanool segudes 0-95-massiprotsendi etanooli sisalduseni temperatuuril 25°C [26] ja 4-MPDCA vesi-atsetonitriil segudes 1-60-massiprotsendi atsetonitriili sisalduseni temperatuuridel 15-45 °C [27].

4. EKSPERIMENTAALNE OSA

4.1 Reaktiivid ja solventid

Kasutatud reaktiivide ja solventide füüsikalised konstandid

Nimetus	M, g/mol	st, °C	kt, °C	Puhastus meetod	Puhtuse aste	Allikas
atsetonitriil	41,05	-45	82	destillatsioon	min. 98%	Rathburn
metanool	32,04	-98	64,7	destillatsioon	min. 99,8%	Aldrich
dietüüleeter	74,12	-116	34,6	destillatsioon	min. 99%	Aldrich
heksaan	86,18	-95	69	-	min. 99%	Aldrich
dikloroatsetüülkloriid	112,95	-22	105	-	min. 99%	Aldrich
4-metoksüfenool	139,11	113-115	279	.	min. 99%	Aldrich
püridiin	79,1	-41	115	-	min. 99%	Aldrich

4.1.1 Kasutatud ühendite puhastamine

- Metanooli (kt 64,7 °C) ja heksaani (kt 69 °C) puhastamiseks kasutati fraktsioneerivat destillatsiooni.
- Dietüüleeter destilleeriti Na traadi pealt, fraktsioon koguti keemistemperatuuriga 34-35 °C.
- Atsetonitriili kuivatamiseks hoiti solventi Linde 4Å molekulaarsõelte peal. Seejärel segati CaH₂-l, millele järgnes fraktsioneeriv destillatsioon.

4.2 Aparatuur ja töövahendid

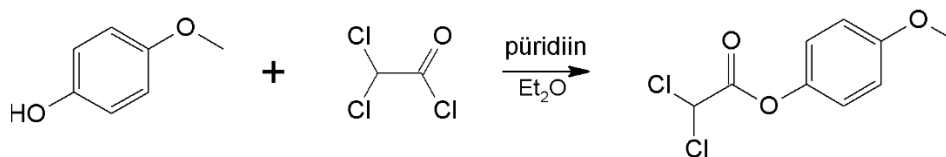
- Kõik reaktiivid ja solventid kaaluti digitaalsetel kaaludel KERN EW420-3NM ja RADWAG WAS 220/C/2.
- Tuumamagnetresonants (TMR) analüüsid viidi läbi masinal BrukerAvance II 200. Analüüsid teostas Ksenija Kisseljova (PhD)
- Infrapunased (IP) spektromeetrilised analüüsid teostati seadmega FT-IR PerkinElmer PC16, spektrid mõõdeti ATR-seadmega.

- Sulamistemperatuur määrati firma Gallenkamp digitaalse sulamistemperatuuri mõõtmise seadmega.
- Spektrofotomeetrilised mõõtmised teostati spektrofotomeetriga ThermoScientific Evolution 160 UV-Vis, mille küvetihoidjas oli magnetsegaja STARNA SCS 1.22. Spektrofotomeetri juhtprogrammiks oli VISIONlite 4.0.
- Temperatuuri konstantsena hoidmiseks kasutati termostaati Huber K6s-NR, jahutusmasinaks oli Microprocessor Control MPC-E.
- pH määrati Metrohm 744 pH-meetriga.
- Andmeanalüüs teostati programmidega GraphPad Prism5 ja Microsoft Office Excel 2010.

4.3 4-metoksüfenüül-2,2-dikloroatsetaadi süntees [28]

200 ml-s veevabas dietüületris lahustati 12,41 g 4-metoksüfenooli ja 7,91 g püridiini segu. Saadud segule lisati vähehaaval 50 ml-s dietüületris lahustatud dikloroatsetüülkloriid, viimast kaaluti 14,74 g. Segu segati toatemperatuuril püstjahuti all 45 min. Püridiiniumkloriid filtreeriti välja, eeter eemaldati rotaatoraurutiga. Saadi 4-metoksüfenüül-2,2-dikloroatsetaat (4-MPDCA), mis kristalliseeriti ümber dietüüleetri-heksaani segus. Sulamistemperatuuriks määrati 60-61 °C. Saagis oli 68%. Süntees teostati koos Morten Vaalmaga.

IP spektromeetriga, cm^{-1} (ATR peegeldustehnika): 1760 (C=O), 1606 (aromaatsus C=C), 1188 (Ar-OC), 775 (C-Cl) (**Lisa 1**). Tuumamagnetresonants spektroskoopia (TMR): H-TMR (CDCl_3) δ 3,81 (s, 2 H) 6,87 (d, 2 H) ja 7,13 (d, 2 H) (**Lisa 2**); C-TMR (CDCl_3): 163.6 (C=O), 158.28 (fenüül), 144.04 (=C), 121.8 ($\text{CH}_2=$), 55.9 (OCH_3) (**Lisa 3**).



Skeem 1. 4-MPDCA süntees

4.4 Eel katsed mudelreaktsioonile

Kõik vesilahused valmistati kaalumise ja vahetult enne eksperimendi algust kasutades Milli-Q vett ja analüütilise puhtusega metanooli, seejuures võeti arvesse lahuse tiheduse muutust erinevate metanooli (MeOH) massiprotsentide juures.

Eel katsed mudelreaktsiooni (4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüs) kineetikale viidi läbi spektrofotomeetriselt, sisestades automaatpipetiga 3 ml lahused 1.000 cm korgiga suletavatesse termostateeritud kvartsküvettidesse, mis olid varustatud segajaga. 4-MPDCA lahustati eelnevalt analüütilise puhtusega veevabas atsetontriilis või vastavas kaassolvendis ning 3 µL kogused süstiti mikrosüstlaga otse reaktsioonirakku (kvartsküvetti), saades vajalikud kontsentratsioonid. Mõõdeti tekkiva 4-MP neeldumist (λ_{\max} = 288 nm) või võeti spektreid 250-320 nm. Andmetöötlus teostati programmidega Microsoft Excel 2010 ja GraphPad Prism5. (**Lisa 4**)

4.4.1 Fotomeetrilised testimised

Antud süsteemidele teostati Bouguer-Lambert-Beer'i seaduse ($A = \epsilon \cdot c \cdot l$) kehtivuse kontroll. Selleks viidi läbi 4-MP kalibreerimised vesi-metanooli segudes 10 ja 60 metanooli massiprotsendi juures, pH-st sõltumatu hüdrolüüsi pH alal ja $25 \pm 0,05$ °C juures. 4-MP UV-Vis spektreid mõõdeti 250-320 nm viiel erineval kontsentratsioonil 10^{-5} M, $5 \cdot 10^{-5}$ M, 10^{-4} M, $2,5 \cdot 10^{-4}$ ja $5 \cdot 10^{-4}$ M (**Lisa 5**).

4.4.2 Mudelreaktsiooni pH-st sõltuvuse kontroll

4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüsi pH-st sõltumatu ala kontroll teostati 2-massiprotsendilises metanoolis, $25 \pm 0,05$ °C juures. Selleks kaaluti 2 %-st HCl lahust eelnevalt valmistatud vesi-metanool lahusesse, pH määrati siin lahjades metanooli lahustes pH-meetriga. Järgnevalt mõõdeti mudelreaktsiooni kineetikat vees erinevatel pH-väärtustel.

4.5 Kineetilised mõõtmised mudelestriga

4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kineetika mõõtmiste läbiviimiseks vesi-metanooli segudes, mis valmistati kaaludes soovitud suhtega 100 ml kolbi. Et tagada pH-st sõltumatu hüdrolüüsi tingimused lisati 0,08 g 2 %-list HCl vesilahust. Seejärel pipeteeriti 3 ml saadud lahust 1,000 cm mahutavusega magnetsegajaga varustatud kvartsküvetti, mis termostateeriti vajalikule temperatuurile $25^{\circ}\text{C} \pm 0,05$ °C. Järgnevalt kaaluti 0,1175 g 4-MPDCA, mis lahustati

MeCN-s. Mikrosüstlaga süstiti 3 µl saadud lahust eelnevalt termostateeritud küveti, mille tulemusena saavutati vajalik algkontsentratsioon 10^{-4} M.

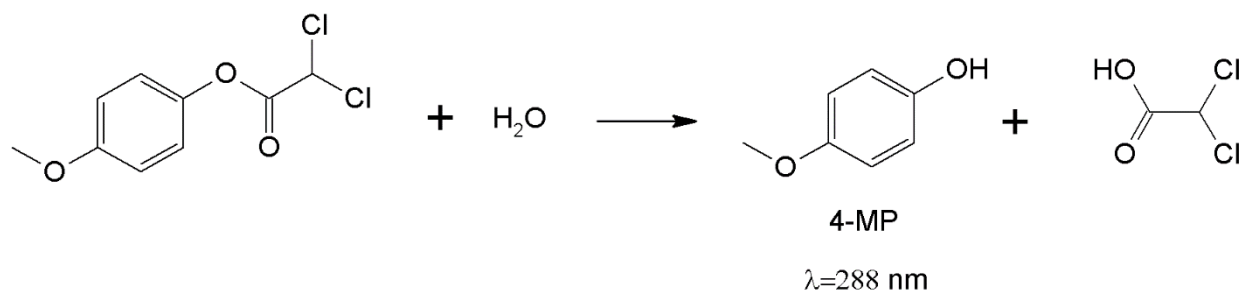
Seejärel alustati 4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolyüsi kineetika mõõtmist UV-Vis spektrofotomeetril. Neeldumist määrati fotomeetriselt tekkiva 4-MP ($\lambda_{\text{max}} = 288$ nm) järgi (Skeem 1.). Kontrolliks võeti ka mõnel juhul spektreid vahemikust 250 - 400 nm. Andmetöötlus viidi läbi programmidega VisionLite 4.0, Microsoft Excel 2010 ja GraphPad Prism5, millest leiti pseudo-esimest järku kiiruskonstandid. GraphPad Prism5-s kasutati valemit:

$$Y = Y_0 + (\text{Plateau} - Y_0) * (1 - e^{-Kx}).$$

Lisaks kasutati Rudakovi diferentsiaalmeetodit [29] programmis Microsoft Office Excel 2010, kus seati vastavusse $\ln(A_t + \Delta t - A_t)$ ja \bar{t} (A_t on neelduvus ajahetkel t , $A_t + \Delta t$ on neelduvus ajahetkel $t + \Delta t$ ja \bar{t} on antud ajahetkede aritmeetiline keskmine) ning tekkinud sirgete tõusudest määrati regressioonanalüüsiga kiiruskonstandid.

5. TULEMUSED JA ARUTELU

4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüs on leitud olevat sobilik antud töös ja vastav ester sünteesiti (vt. 4.3). Selle estri hüdrolüüs on UV-Vis fotomeetriliselt jälgitav, kus tekkiva 4-MP neelduvused on $\lambda_{\max}=288$ nm (Skeem 2.).



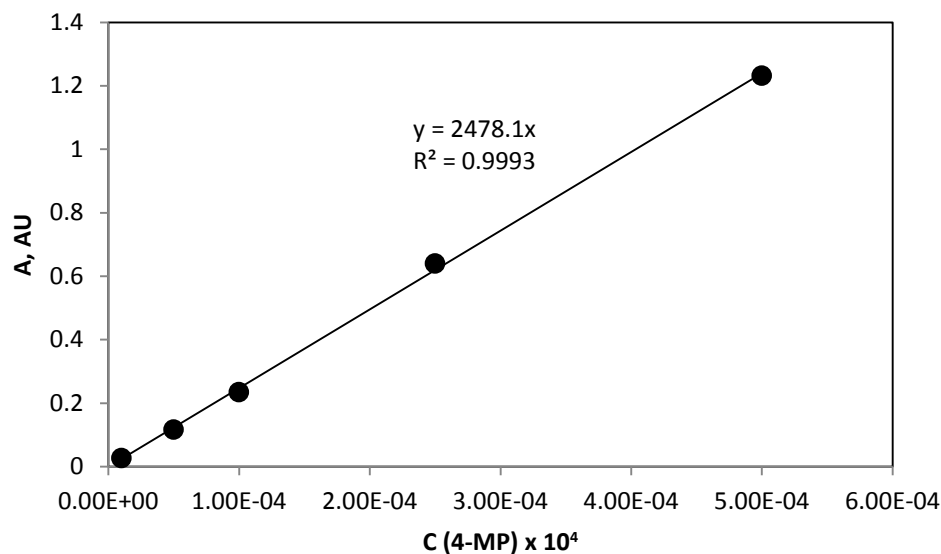
Skeem 2. 4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüs.

5.2 Mudelreaktsiooni kineetika eeluuringud

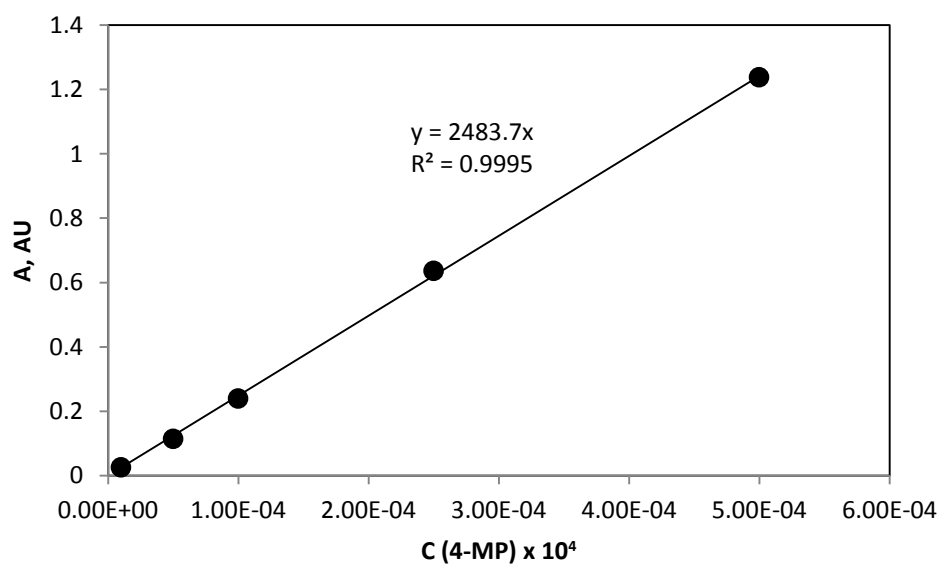
5.2.1 Fotomeetrilised testimised

Fotomeetrilisteks testimisteks teostati Bouguer-Lambert-Beer'i seaduse kehtivuse kontroll. Katsed viidi läbi 10- ja 60- massiprotsendilistes vesi-metanool lahustes vastava HCl lisandiga, kus mõõdeti 4-MP spektreid viiel erineval kontsentratsioonil 10^{-5} M, $5 \cdot 10^{-5}$ M, 10^{-4} M, $2,5 \cdot 10^{-4}$ ja $5 \cdot 10^{-4}$ M.

Leiti, kuna et Bouguer-Lambert-Beer'i seadus kehtib mõlema metanooli koostise juures, siis kogu solventsegude ulatuses pole vaja kalibreerimist teostada. 10- ja 60- massiprotsendiliste vesi-metanool lahuste tulemused on esitatud vastavalt joonisel 1 ja joonisel 2. Samas tingituna solvatokroomsetest efektidest [2] tekkis neeldumismaksimumi nihe, vastavalt 10 massi% metanoolis $\lambda_{\max}=288$ nm ja 60 massi% metanoolis $\lambda_{\max}=290$ nm (vt. **Lisa 5**). 4-MP korral, temperatuuril 25 °C, on vastavad molaarsed neeldumiskoeffitsendid $\epsilon_{288}=2478$ M⁻¹cm⁻¹ ja $\epsilon_{290}=2484$ M⁻¹cm⁻¹. Solvatokroomne nihe ei sega kineetika mõõtmist ja katsed teostati lainepikkusel $\lambda=288$ nm-l.



Joonis 1. 4-MP kalibreerimisgraafik viiel erineval kontsentratsioonil 10^{-5} M, $5 \cdot 10^{-5}$ M, 10^{-4} M, $2,5 \cdot 10^{-4}$ ja $5 \cdot 10^{-4}$ M. Neeldumised määrati vees $\lambda_{\text{max}} = 288$ nm juures vesi-metanool segus 10 massiprotsendi metanooli ja 25 °C juures.



Joonis 2. 4-MP kalibreerimisgraafik viiel erineval kontsentratsioonil 10^{-5} M, $5 \cdot 10^{-5}$ M, 10^{-4} M, $2,5 \cdot 10^{-4}$ ja $5 \cdot 10^{-4}$ M. Neeldumised määrati vees $\lambda_{\text{max}} = 290$ nm juures vesi-metanool segus 60 massiprotsendi metanooli ja 25 °C juures.

5.2.2. pH-st sõltumatu 4-MPDCA hüdrolüüsi pH piirkonna määramine

Varasemalt on meie töögrupis määratud 4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüsi pH-vahemik, milleks on $\text{pH} = 1...5,3$. Antud juhul teostati mudelreaktsiooni kiiruse pH-st sõltuvuse kontrollmõõtmised $25 \pm 0,05$ °C juures. Selleks mõõdeti hüdrolüüsi reaktsiooni kineetikat järgmistel pH väärtustel: 2,63; 3,6; 5 2-massiprotsendi metanooli lahustes. Tulemustest selgub, et pH vahemikus 2,36...5 on kiiruskonstantide väärtused väga sarnased (Tabel 1.).

Tabel 1. 4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kiiruse sõltuvus pH-st 2-massiprotsendilises vesi-metanool segus temperatuuril 25 °C.

pH	$k \times 10^4 \text{ s}^{-1}$
2,63	2,62
3,60	2,66
5,00	2,64

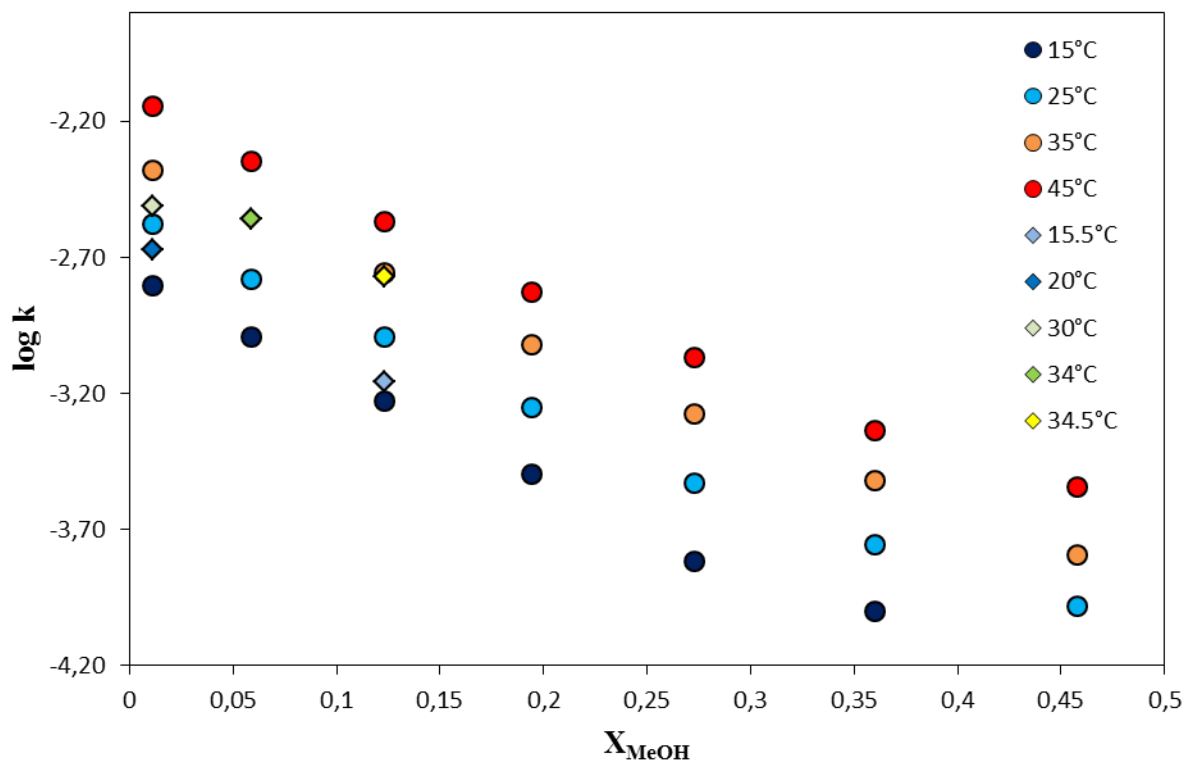
Tabelist 1 võib näha, et kineetika mõõtmiseks valitud estri pH-st sõltumatu hüdrolüüsi ala jääb 4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüsi piirkonda, see tähendab, et suhteliselt laias pH vahemikus on välistatud võimalik metanooli lisamisel muutuva pH mõju reaktsiooni kineetikale. Estri pH-st sõltumatu hüdrolüüsi ala tagamiseks kaaluti 2%-list HCl lahust 0,08 g 100 ml vesi-metanool lahusesse, saades pH väärtuseks 3,6. Sellest tulenevalt võib väita, et tööks valitud pH piirkond on sobiv mudelestri pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kineetilisteks uuringuteks vesi-metanool solventsegudes. Hilisemate kineetilistel mõõtmistel suuremate metanooli hulkade juures 50- ja 60-massiprotsenti teostati korduskatseid, kus segusse lisatavat HCl lahuse hulka ka varieeriti. Kuna kiiruskonstandid langesid mõlemal juhul kokku, siis võis olla veendunud, et ka suurtel metanooli hulkade juures töötati pH-st sõltumatu hüdrolüüsi piirkonnas.

5.3 Mudelreaktsiooni kineetika mõõtmised vesi-metanool segus

4-MPDCA pH-st sõltumatu e hüdrolüüsi mõõtmiskatsed teostati metanooli 2, 10, 20, 30, 40, 50 ja 60 metanooli massiprotsendi juures, temperatuuridel 15 °C, 25 °C, 35 °C ja 45 °C. Mõõtmistulemuste analüüsil leiti, et hüdrolüüsireaktsioon allub pseudo-esimest järku kineetikale. Eksperimentaalselt leitud estri hüdrolüüsi kiiruskonstandid on toodud tabelis 2 ja esitatud gaafiliselt joonisel 3.

Tabel 2. Pseudo-esimest järku kiiruskonstandid vesi-MeOH solventsegu, kiiruskonstant on esitatud koos keskmisest absoluuthälbest saadud määramatusega.

MeOH, wt%	MeOH, Moolimurd, X	Temperatuur, °C	Kiiruskonstant, $k_f \times 10^4 \text{ s}^{-1}$	Log k	Mõõtmiste arv
2	0,011	15,0	$14,941 \pm 0,461$	-2,803	2
		20,0	21,170	-2,674	1
		25,0	$26,437 \pm 0,237$	-2,578	3
		30,0	30,770	-2,512	1
		35,0	$41,863 \pm 0,865$	-2,383	2
		45,0	71,263	-2,147	1
10	0,059	15,0	$10,151 \pm 0,381$	-2,993	3
		25,0	$16,650 \pm 0,350$	-2,779	3
		34,0	$26,687 \pm 0,834$	-2,560	2
		45,0	$43,853 \pm 0,654$	-2,346	2
20	0,123	15,0	$5,910 \pm 0,671$	-3,228	2
		15,5	6,944	-3,158	1
		25,0	$10,165 \pm 0,549$	-2,993	3
		34,5	16,850	-2,773	1
		35,0	$17,445 \pm 0,010$	-2,758	2
		45,0	$27,020 \pm 0,710$	-2,568	3
30	0,194	15,0	$3,187 \pm 0,271$	-3,497	2
		25,0	$5,598 \pm 0,106$	-3,252	2
		35,0	$9,504 \pm 0,216$	-3,022	3
		45,0	$14,940 \pm 0,180$	-2,826	2
40	0,273	15,0	$1,518 \pm 0,044$	-3,819	2
		25,0	$2,947 \pm 0,182$	-3,531	3
		35,0	$5,308 \pm 0,075$	-3,275	2
		45,0	$8,509 \pm 0,023$	-3,070	2
50	0,360	15,0	1,001	-4,000	1
		25,0	1,762	-3,754	1
		35,0	$3,010 \pm 0,579$	-3,522	2
		45,0	4,618	-3,336	1
60	0,458	25,0	$1,050 \pm 0,101$	-3,979	2
		35,0	$1,618 \pm 0,135$	-3,791	2
		45,0	2,850	-3,545	1



Joonis 3. 4-MPDCA hüdrolyüsi log k sõltuvus vesi-metanool segu koostisest mõõdetuna erinevatel temperatuuridel.

Kiiruskonstandid leiti tarkvarapaketiga GraphPad Prism5 ja Rudakovi diferentsiaalmeetodiga. Kiiremate reaktsioonide korral, kus metanooli sisaldus kaassolventsegudes on väiksem (2-30 massiprotsenti), andsid meetodid kattuvaid tulemusi, aeglasemate reaktsioonide (40-60 massiprotsenti metanooli ja temperatuuridel 15 ja 25 °C juures ei osutunud GraphPad Prism5-ga saadud tulemused usaldusväärseteks. Selle põhjuseks oli reaktsiooni aeglusest tingituna liiga vähese reaktsioonisügavusele mõõtmine, ~1 poolestusaeg ja neelduvuste liiga väike ajaline muutus, mille tõttu andmete lõpmatusse ekstrapoleerimine andis liiga suuri vigu ning kiiruskonstante ei saadud väga hea reprodutseeritavusega. Rudakovi diferentsiaalmeetod [29] andis kogu solventsegu kontsentratsioonide ulatuses usaldusväärseid tulemusi, samuti võimaldas see meetod lühendada mõõtmise aega.

15 °C juures läbiviidud mõõtmised olid kõige hajuvamad ja 60- massiprotsendiga vesi-MeOH lahuses 15 °C juures tehtud mõõtmised ei andnud ka Rudakovi diferentsiaalmeetod usaldusväärseid tulemusi ning saadud tulemusi tabelisse ei kandnud. Siin võiks aidata ajaliselt pikem mõõtmine (poolestusaeg on kuskil 4 tundi). Ka algkontsentratsiooni tõstmine nt 2 korda

võimaldaks paremini neelduvuse muutust leida. Andmete hulga suurendamise eesmärgil võiks seal mõõta mudelestri pH-st sõltumatut hüdrolüüsi temperatuuril 20 °C või veel kõrgemal, 50 °C kus reaktsioon oleks kiirem.

6. KOKKUVÕTE

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on 4-metoksüfenüül-2,2-dikloroatsetaadi pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kineetika mõõtmised vesi-metanol segudes laias kaassolvendi koostise vahemikus ning seda erinevatel temperatuuridel.

4-metoksüfenüül-2,2-dikloroatsetaadi sünteesimeetod leiti kirjandusest ja antud ester sünteesiti. Mudelestri hüdrolüüsi kineetikat saab mõõta UV-Vis fotomeetriliselt, see meetod teeb katsed mugavaks ja kiireks, tagatud on usaldusväärsed tulemused ka väikeste kontsentratsioonide puhul.

Fotomeetrilisteks testimisteks teostati Bouguer-Lambert-Beer'i seaduse kehtivuse kontroll. Katsed viidi läbi 10 ja 60 massiprotsendilistes vesi-MeOH segudes, kus mõõdeti 4-metoksüfenooli spektreid erinevatel kontsentratsioonidel. Leiti, et Bouguer-Lambert-Beer'i seadus kehtib 4-metoksüfenooli kontsentratsioonide alas, kus mõõdetakse mudel reaktsiooni ja seda kõigil mõõdetavatel vesi-metanol segude korra.

4-metoksüfenüül-2,2-dikloroatsetaadi pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kineetika mõõtmine teostati vesi-metanol solventsegudes, metanooli sisaldus oli vahemikus 2-60 massiprotsenti. Meie töögrupi poolt oli varem kindlaks tehtud, et 4-MPDCA pH-st sõltumatu hüdrolüüs toimub pH vahemikus 1–5,3 vees, antud töö jaoks tehti selle kinnituseks ka eelkatsed. Kineetika mõõtmised viidi läbi pH-st sõltumatu hüdrolüüsi toimumisalas järgmistel temperatuuridel: 15°C, 25°C, 35°C ja 45°C.

Antud töö hõlmab ühte osa suuremast projektist, kus leitud mudelreaktsiooni kineetikat mõõdetakse veel paljudes vesi-orgaanilistes solventsegudes. Käesoleva töö jaoks teostatud kineetilised mõõtmised näitavad, et valitud mudelestri pH-st sõltumatu hüdrolüüsi reaktsioon on sobilik, et teostada põhjalikke hüdrolüüsikineetika mõõtmisi erinevates vesi-orgaanilistes solventsegudes.

7. SUMMARY

Maikal Pikalev

Kinetic measurements of ester hydrolysis in water-methanol binary solvents

The aim of this bachelor's thesis is to measure the kinetics of the pH-independent hydrolysis of 4-methoxyphenyl 2,2-dichloroacetate in water-methanol mixtures in a wide range of cosolvent compositions at different temperatures.

The synthesis method of 4-methoxyphenyl 2,2-dichloroacetate was found from literature and the given ester was synthesised. Kinetics of model ester hydrolysis can be measured by UV-Vis photometrically. This method makes the tests convenient and fast, and reliable results are ensured even in case of small concentrations.

For photometric testing, Bouguer-Lambert-Beer law's validity was tested. The tests were carried out in 10 and 60 wt% of water-MeOH solutions, in which 4-methoxyphenol spectrums were measured in different concentrations. It was found that the Bouguer-Lambert-Beer law is valid.

Kinetic measurements of the pH-independent hydrolysis of 4-methoxyphenyl 2,2-dichloroacetate carried out in water-methanol solvent mixtures; the methanol content was from 2 to 60 wt% at temperatures of 15 °C, 25 °C, 35 °C and 45 °C.

8. KASUTATUD KIRJANDUSE LOETELU

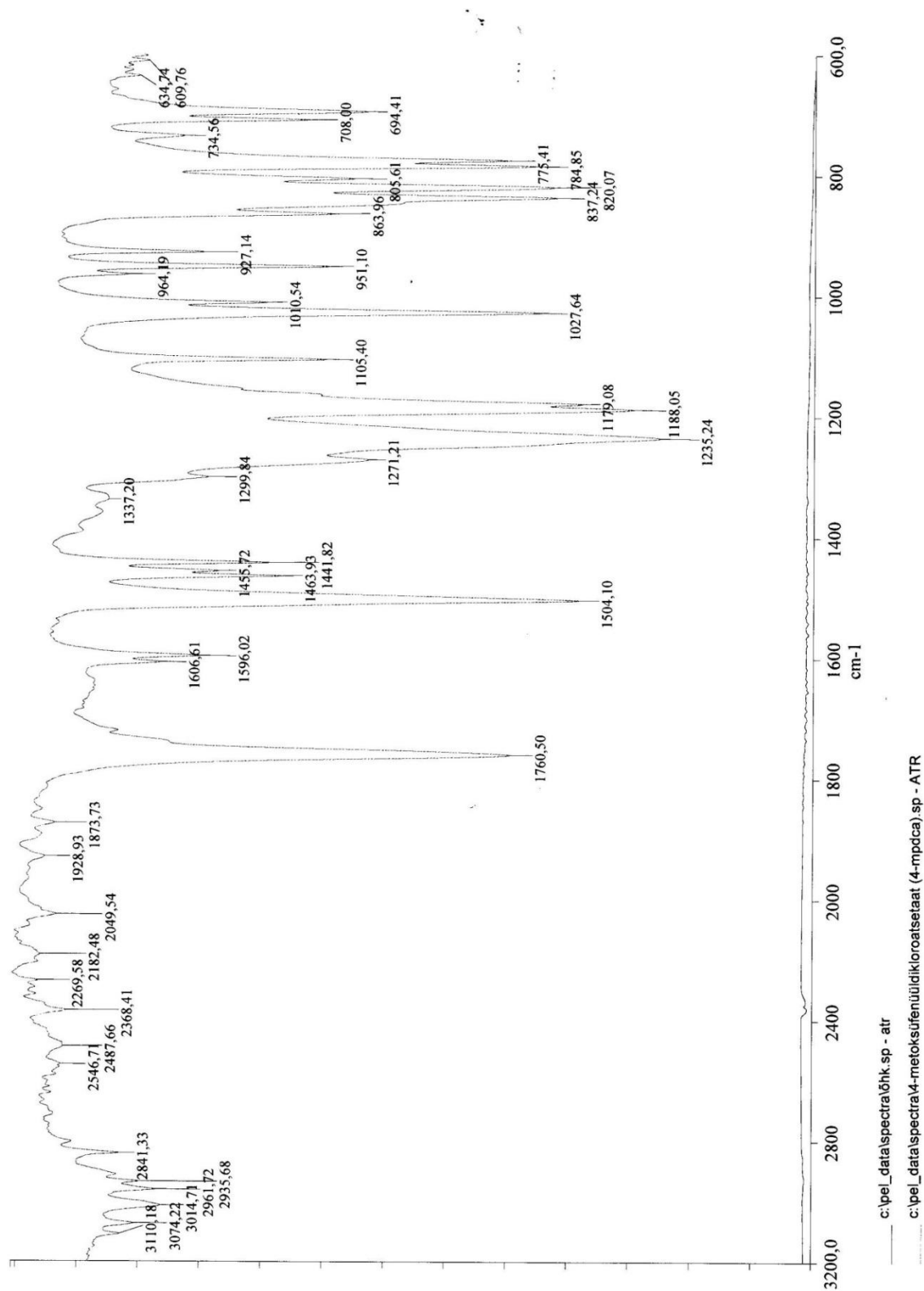
1. Breslow, R.; Lindström, M. (Ed.). *Organic Reactions in Water: Principles, Strategies and Applications*, Blackwell Publishers, Oxford, 2007.
2. C. Reichardt, T. Welyon, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 4th Ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2011.
3. A.S. Bommarius, B.R. Riebel-Bommarius, *Biocatalysis: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, 2007.
4. V. Kislik, *Solvent Extraction: Classical and Novel Approaches*, Elsevier, Oxford, 2012.
5. A. Wakisaka, H. Abdoul- Carime, Y. Yamamoto, Y. Kiyozumi, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1998**, 94, 369-374
6. N. Nishi, K. Koga, C. Oshima, K. Yamamoto U. Nagashima, K. Nagami, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 5246- 5255
7. Bako, I.; Megyes T.; Bálint, S.; Grósz, T., Chiaia V., Water- methanol mixtures: topology of hydrogen bonded network, *Phys. Chem.*, **2008**, 10, 5004- 5011
8. Yoshida, K.; Kitajo, A.; Yamaguchi, T., ^{17}O NMR relaxation study of Dynamics of water molekules in aqueous mixtures of methanol, ethanol, and 1-propanol over a temperature range of 283-403 K. *J. Mol. Liq.* **2006**, 125,158-163.
9. Otto, S.; Engberts, J. B. F. N. Hydrophobic Interactions and Chemical Reactivity. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 2809-2820
10. Blokzijl, W.; Engberts, J. B. F. N. Hydrophobic Effects. Opinions and Facts. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1545-1579.
11. Shin, D. N.; Wijnen, J. W.; Engberts, J. B. F. N.; Wakisaka, A. On the Origin of Microheterogeneity: Mass Spectrometric Studies of Acetonitrile-Water and Dimethyl Sulfoxide-Water Binary Mixtures. *J. Phys. Chem. B*, **2002**, 106, 6014.
12. Hu, N.; Wu, D.; Cross, K.; Burikov, S.; Dolenko, T.; Patsaeva, S.; Schaefer, D. W. Structurability: A Collective Measure of the Structural Differences in Vodkas. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 57, 7394-7401.
13. Hu, N.; Schaefer, D. W. Identification of Ethanol Hydrate Complexes by Multivariate Curve Resolution Analysis of Radial Distribution Functions. *J. Mol. Liq.* **2011**, 159, 189-195.

14. Hu, N.; Schaefer, D. W. Effect of Impurity Compounds on Ethanol Hydration. *J. Mol. Liq.* **2010**, 155, 29-36.
15. El Seoud, O. A. Understanding Solvation. *Pure Appl. Chem.* **2009**, 81, 697-707.
16. Y. Marcus, *Solvent Mixtures-Properties and Selective Solvation*, M. Dekker, New York, Basel, 2002.
17. S. Salmar, A. Kuznetsov, A. Tuulmets, J. Järv, S. Piiskop, Kinetic sonication effects in light of molecular dynamics simulation of the reaction medium, *Ultrason. Sonochem.* **2013**, 20, 703-707.
18. S. Piiskop, S. Salmar, A. Tuulmets, A. Kuznetsov, J. Järv, Kinetic sonication effects in aqueous acetonitrile solutions. Reaction rate levelling by ultrasound, *Ultrason. Sonochem.* **2013**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.03.014>.
19. Connors, K. A.; Wypych, G. (Ed.). *Handbook of Solvents*, ChemTec Publishing, Toronto, 2001.
20. Tuulmets, A.; Järv, J.; Tenno, T.; Salmar, S. Significance of Hydrophobic Interactions in Water-Organic Binary Solvents. *J. Mol. Liq.* **2009**, 148, 94-98.
21. Salmar, S.; Järv, J.; Tenno, T.; Tuulmets, A. Role of Water in Determining Organic Reactivity in Aqueous Binary Solvents. *Cent. Eur. J. Chem.* **2012**, 10, 1600-1608.
22. Engbersen, J. F. J.; Engberts, J. B. F. N. Water Structure and its Kinetic Effects on the Neutral Hydrolysis of Two Acyl Activated Esters. *JACS.* **1975**, 97, 1563-1568.
23. Rispens, T.; Cabaleiro-Lago, C.; Engberts, J. B. F. N. Kinetics of Hydrolysis of 4-Methoxyphenyl-2,2-Dichloro Ethanoate in Binary Water-Cosolvent Mixtures; The Role of Solvent Activity and Solute-Solute Interactions. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 597-602.
24. El Seoud, O.; Siviero, F. Kinetics of the pH-Independent Hydrolyses of 4-Nitrophenyl Chloroformate and 4-Nitrophenyl Heptafluorobutyrate in Water-Acetonitrile Mixtures: Consequences of Solvent Composition and Ester Hydrophobicity. *J. Phys. Org. Chem.* **2006**, 19, 793-802.
25. El Seoud, O.; El Seoud, M.; Farah, J. P. S. Kinetics of the pH-Independent Hydrolysis of bis(2,4-Dinitrophenyl) Carbonate in Acetonitrile-Water Mixtures: Effects of the Structure of the Solvent. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 5928-5933.
26. Jõgi J. Estri hüdrolüüsi reaktsiooni reaktsiooni kineetika mõõtmise vesi-orgaanilistes solventsegudes. Bakalaureusetöö, Tartu Ülikool, 2011.

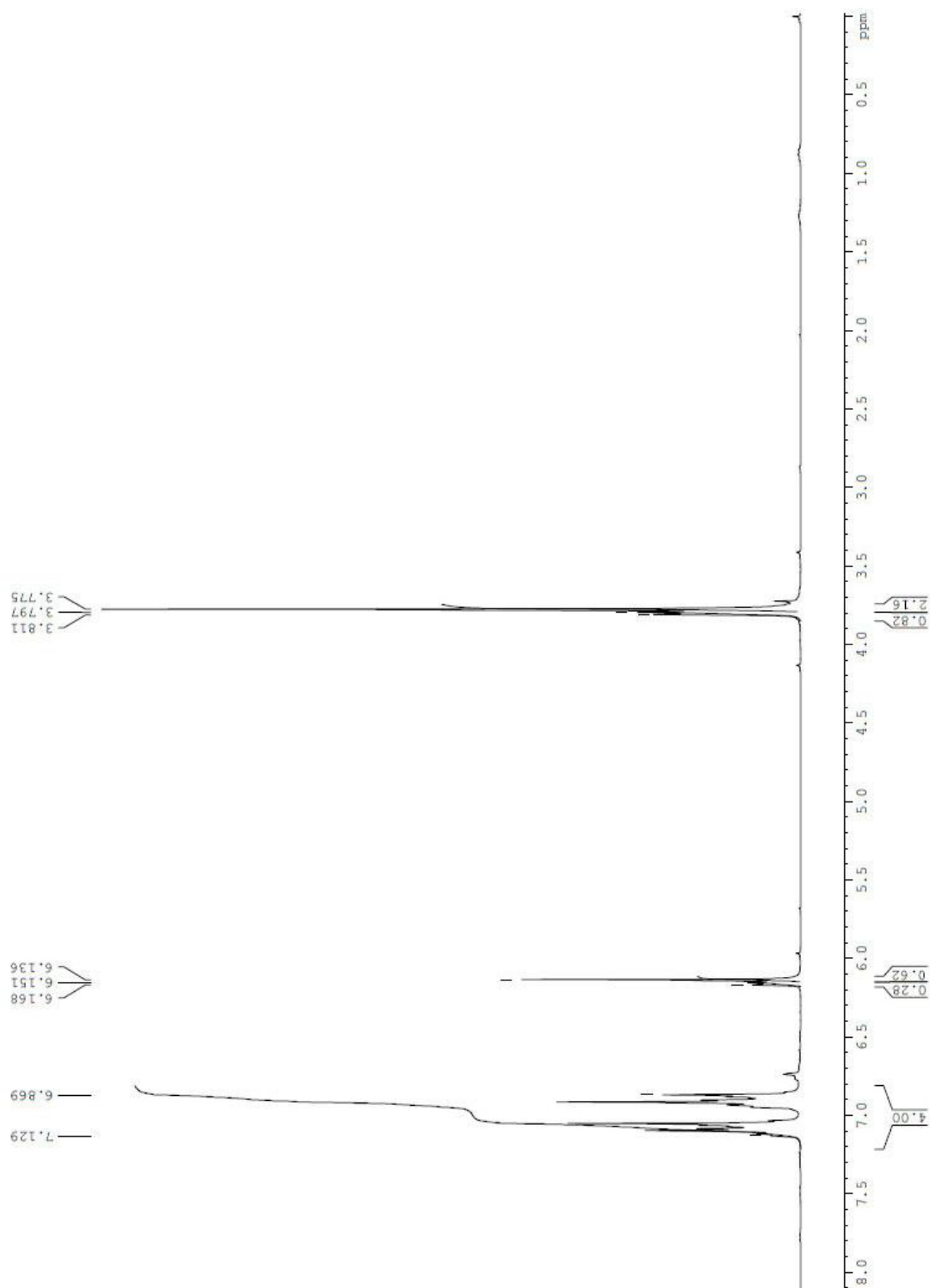
27. Hendrikson S. Estri hürolüüsi kineetika uurimine vesi-atsetonitriil solventsegudes. Bakalaureusetöö, Tartu Ülikool, 2012.
28. Buyle, R. Activated Esters. II. Preparation and Alkaline Hydrolysis of Mono-, Di-, and Trichloroacetyl hydrazides. *Helvetica Chimica Acta*, **1964**, 47, 2449.
29. Rudakov, E. Differential Methods of Determination of Rate Constants of Noncomplicated Chemical Reactions. *Kinetics and Catalysis I* **1960**, 177

LISAD

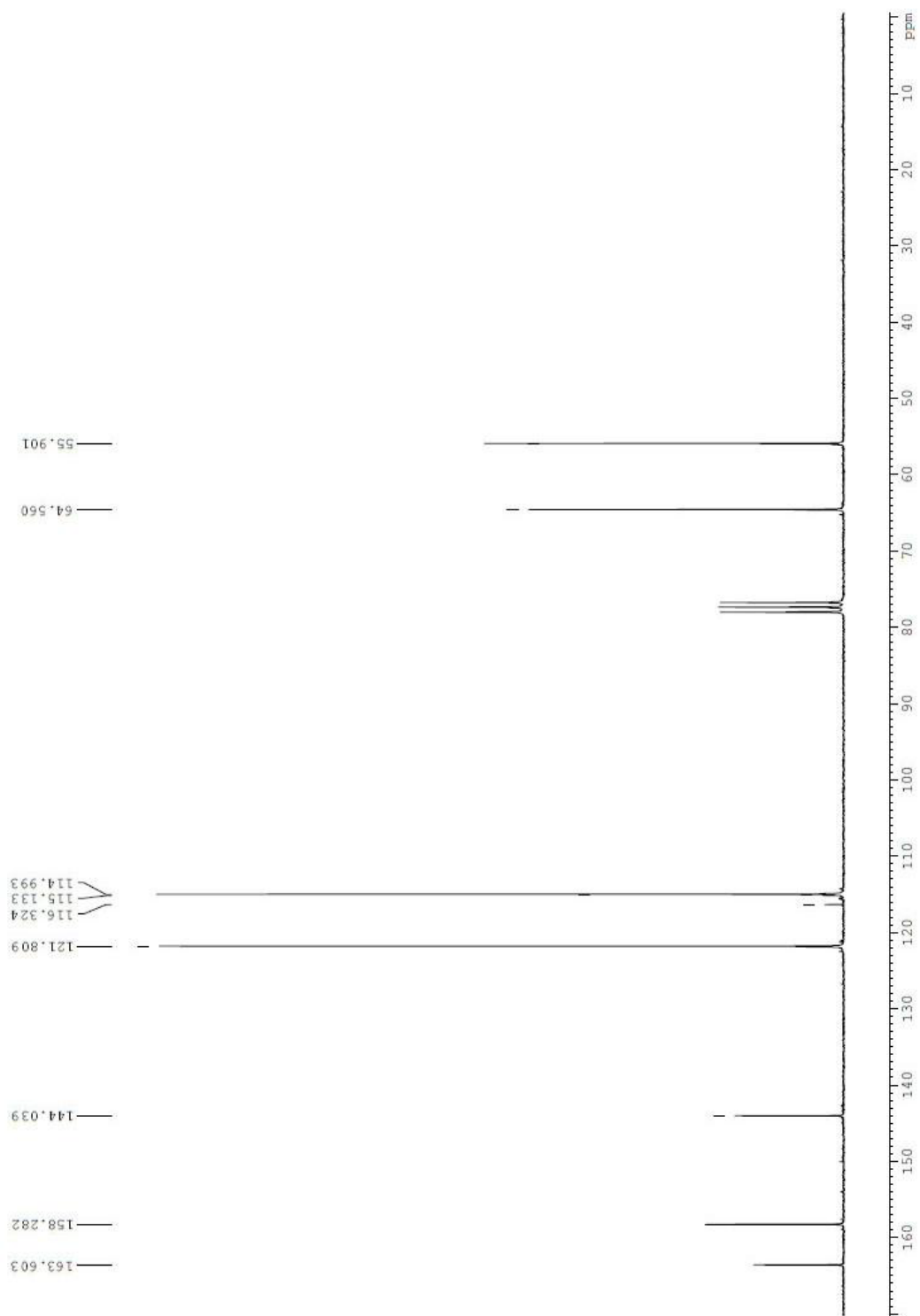
LISA 1. 4-MPDCA IP-spekter



LISA 2. 4-MPDCA H-TMR specter

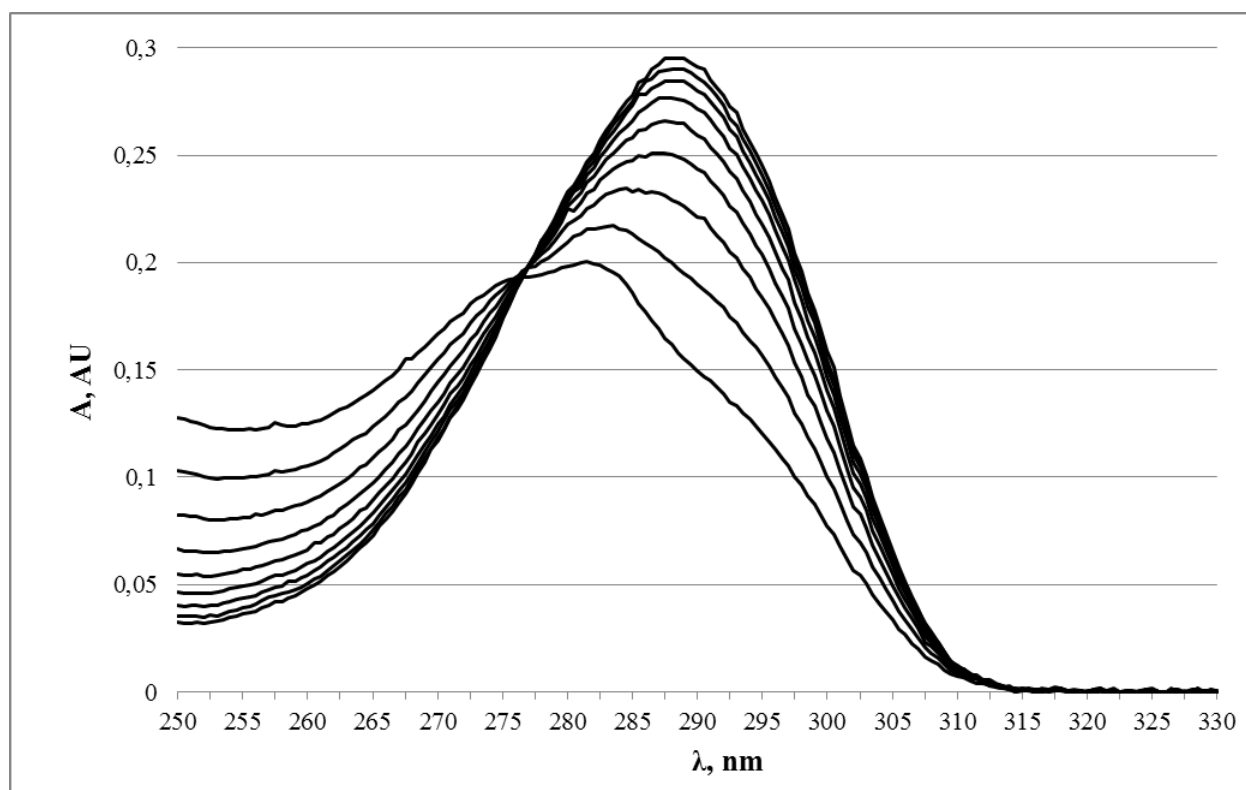


LISA 3 4-MPDCA C-TMR spekter



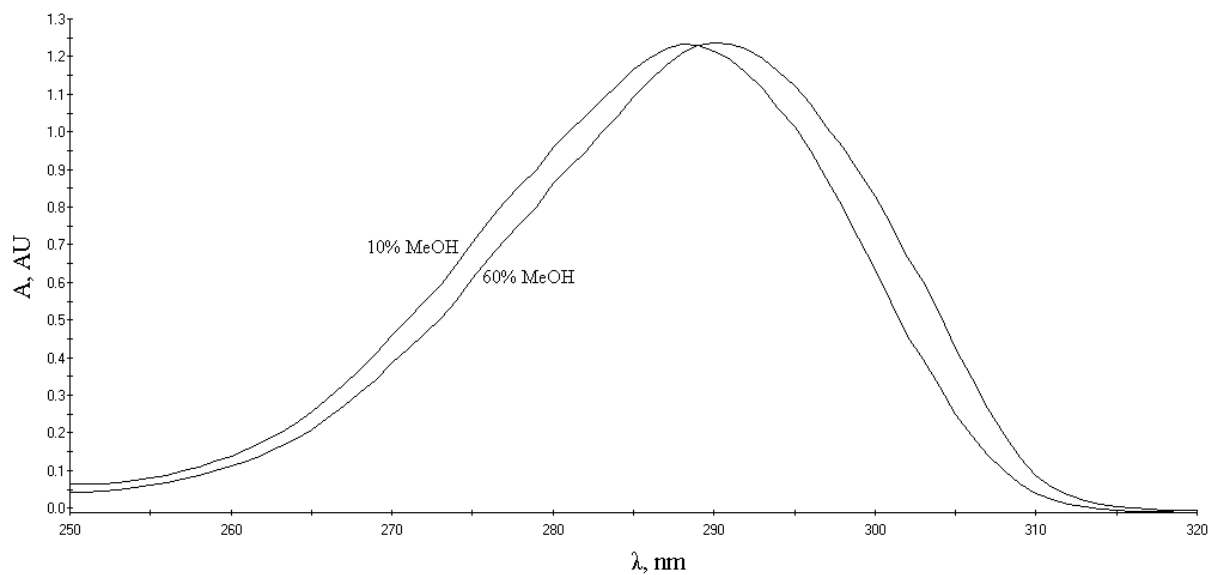
LISA 4

4-MPDCA (10^{-4} M) pH-st sõltumatu hüdrolüüsi kineetika mõõdetud spektrofotomeetriselt. 4-MPDCA ja 4-MP neeldumised lainepikkustel vastavalt $\lambda_{\text{max}} = 270$ nm ja $\lambda_{\text{max}} = 290$ nm.



LISA 5

4-MP (5×10^{-4} M) spektrofotomeetriselised mõõtmised 10% MeOH ja 60% MeOH lahuses 25 °C juures. Joonisel neeldumismaksimumi nihe $\lambda_{\text{max}} = 288$ nm (10% MeOH) ja $\lambda_{\text{max}} = 290$ nm juures (60% MeOH).



Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina Maikal Pikalev

(sünnikuupäev: 01.12.1985)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

ESTRI HÜDROLÜÜSI KINEETIKA UURIMINE VESI-METANOOL SOLVENTSEGUDES,

mille juhendaja on Siim Salmar,

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus/Tallinnas/Narvas/Pärnus/Viljandis, **28.05.2013**